Lane Medical Library 1933

Aus der Bayer. Veterinärpolizeilichen Anstalt in Oberschleißheim.
Vorstand: Direktor Dr. L. Drescher.

Das Agglutinationsverfahren zum Nachweis von Abortus-Bangbazillen im Meerschweinchenversuch.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Veterinär-medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Hans Ott
appr. Tierarzt aus Neu-Ulm a. D.

Gießen 1933.

Aus der Bayer. Veterinärpolizeilichen Anstalt in Oberschleißheim.
Vorstand: Direktor Dr. L. Drescher.

Das Agglutinationsverfahren zum Nachweis von Abortus-Bangbazillen im Meerschweinchenversuch.

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Veterinär-medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Hans Ott
appr. Tierarzt aus Neu-Ulm a. D.

Gießen 1933.

Gedruckt mit Genehmigung
der veterinär-medizinischen Fakultät zu Gießen.

Referent: Professor Dr. Zwick.

© M. GRESKA
München, Oberanger 12

Meinen lieben Eltern und Paten
aus Dankbarkeit.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154005_0035

In den letzten Jahren rückt die Abortusinfektion des Menschen immer mehr in den Vordergrund des Interesses. Der Veterinärhygiene fällt die Aufgabe zu, die Infektionsquellen, die ihren Ausgang vom Tier nehmen, zu ermitteln. Damit erscheint eine Prüfung der Frage vordringlich, mit welchen Verfahren der Nachweis von Abortusbazillen sicher, rasch, einfach und billig gelingt.

Witzigmann (33) hat in ausgedehnten Versuchen an der Veterinärpolizeilichen Anstalt in Schleißheim die Frage der Züchtung des Bazillus Abortus-Bang auf festen Nährböden bearbeitet. Nun wurde mir die Aufgabe gestellt, die Brauchbarkeit des Impfversuches zum Nachweis der Abortus-Bangbazillen unter alleiniger Berücksichtigung des agglutinatorischen Verhaltens der Impftiere nachzuprüfen. Dabei sollte die Frage vorerst lediglich unter einigen großen Gesichtspunkten behandelt werden.

SCHRIFTTUM

In dem Bestreben, die spezifische Infektion der Meerschweinchen schon zu früherem Zeitpunkt nachzuweisen, als dies bakteriologisch möglich ist, wurden Versuche über das Auftreten von Agglutininen im Blute der Meerschweinchen angestellt.

Zwick und Zeller (36) gelang der Nachweis von Agglutininen im Serum eines ip mit Abortuskultur geimpften Meerschweinchens 6 Tage p. i. bzw. 1 Tag nach dem durch die Infektion bedingten Abort von 2 Feten. Der Titer des Serums betrug vor der Impfung 0, zur Zeit der Prüfung, am 6. Tage p. i., 1 : 200. Ascoli (1) stellte bei infizierten Meerschweinchen Werte zwischen 1 : 200 und 1 : 1000 fest. Klimmer (16) arbeitete mit erhitztem und unerhitztem Ausgangsmaterial. Er fußte auf den Erfahrungen von Zwick und Zeller, daß die Abortusagglutinogene hitzebeständig sind. Bei Untersuchungen von Milchproben kam Klimmer (17) zu dem Ergebnis, daß die serologische Untersuchung der Impftiere sicherere Ergebnisse zeitigt als der Kulturversuch. Titer 1:5 und 1:10 wurden schon als positiv bewertet. Hagan (11) konnte im Serum nichtvorbehandelter Meerschweinchen keine Agglutinine feststellen. Hopfengärtner (14) befaßte sich eingehend mit der Agglutininbildung im Meerschweinchenkörper nach intraperitonealer Einverleibung von Abortus-Bangkulturen, Eihäuten, Labmageninhalt und Organen infizierter Feten. Nach Einver-

leibung unspezifischer Stoffe (Kochsalzlösung, Pferdeserum, Milch) traten keine Agglutinine auf. Schermer und Ehrlich (27) erhielten mit der Züchtung der Bazillen aus dem Meerschweinchenkörper nicht so zuverlässige Ergebnisse als mit der Agglutination des Meerschweinchenblutes. Nach beiden Forschern (zit. 6) liegt der Agglutinationstiter beim normalen Meerschweinchen unter 100. A. Eber (3) prüfte das Blut frühestens 10 Tage p. i. Nach Koegel (18) zeigte ein mit Organmaterial intraperitoneal infiziertes Meerschweinchen nach 14 Tagen einen Agglutinationstiter 1 : 300. Innerhalb 4 Wochen ging dieser Titer indessen auf negative Werte zurück. Mit Kulturen infizierte Meerschweinchen zeigten nach 3 Wochen Titer 1 : 600, 1 : 800 und 1 : 1000. Nach Zeller (34) kommt es im Blutserum von Meerschweinchen, die intracardial mit einer halben oder intraperitoneal und subkutan mit einer ganzen Schrägagarkultur von Abortus- (oder auch Maltafieber-) Erregern geimpft worden waren, regelmäßig zum Auftreten von spezifischen Agglutininen. Im übrigen konnte Zeller die Beobachtung von Meyer, Fleischner und Shaw bestätigen, daß die intratestikuläre Infektion große Sicherheit bietet. R. Pfenniger (zit. 6) bezeichnet den Titer 1 : 40 im Meerschweinchenimpfversuch als positiv. Mit der Prüfung des Serums beginnt er zirka 4 Wochen nach der Impfung. Eickmann und Söntgen (6) bedienten sich zur raschen Feststellung der Abortusinfektion am Meerschweinchen der Schnellagglutination. Die Meerschweinchen wurden vor der Infektion auf das Freisein von Normalagglutininen geprüft; 10 Tage p. i. wurden auf Objektträgern die Serumverdünnungen 1 : 5 und 1 : 10 mit einer Platinöse Kulturmaterial versetzt, 5 Stunden bei einer Brutschranktemperatur in feuchter Kammer gehalten und darnach das Ergebnis abgelesen. Nach einem Referat von Zietzschmann (35) wurden systematische Untersuchungen über das Auftreten von Agglutininen im Meerschweinchen am Ontario Ve-

terinary College durchgeführt. Erhitzen des Infektionsmaterials bedingte einen raschen und ständigen Abfall der Agglutinationskurve. Nach Witte (32) läßt sich die Infektion der Meerschweinchen serologisch frühestens nach 10 Tagen nachweisen. Salus (26) bestätigte die Beobachtungen von Eickmann und Söntgen. Der Nachweis spezifischer Agglutinine gelang ihm nach Verimpfung von Kulturmaterial vom 5. Tag p. i. an mit Anfangstitern 1 : 10. Salus bezeichnet die Agglutinationsmethode beim Meerschweinchen als sicherer wie die mikroskopische und kulturelle Untersuchung der Impftiere. Mit der serologischen Methode wurden 15 % mehr positive Fälle ermittelt als mit der Kulturmethode. Ehrlich (4) beobachtete bei Meerschweinchen, die mit Organmaterial (Hodensaft) vorbehandelt waren, nach 14 Tagen Agglutinationstiter von 1 : 80 und 1 : 160; 4 Wochen später betrug der Titer 1 : 320. Ehrlich (5) konnte ferner unter 77 Fällen, in denen nach Verimpfung von Organmaterial die mikroskopische und kulturelle Untersuchung versagte, 24 positive Fälle durch die Agglutinationsmethode ermitteln. Sensenich (29) fand Agglutinine im Blut geimpfter Meerschweinchen vom 5. Tage an. Titer von 1 : 50 und höher bezeichnete er als positiv. Van der Hoeden (13) stellte bei 172 normalen Meerschweinchen stets negative Agglutinationstiter fest. Bei mit verdächtigen Milchproben geimpften Meerschweinchen untersuchte er das Blutserum 4 bis 6 Wochen p. i. Makkawejsky (19) wies bei einem mit Kultur geimpften Meerschweinchen am 10. Tage p. i. einen Agglutinationstiter 1 : 800 und am 15. Tage 1 : 16000 nach. Schwarz (28) bediente sich zum Nachweis von Bangbazillen in der Milch des Impfversuches unter Beiziehung der Agglutination. Nach Ernst (7) entstehen die Gegenkörper im Blute der Meerschweinchen gewöhnlich 14 Tage bis 4 Wochen nach der Impfung. Poppe (22) bezeichnete Agglutinationswerte von 1 : 20 und höher bei Meerschweinchen als

positiv. Die Sicherung der Diagnose gelang im Agglutinationsverfahren schon 10 bis 14 Tage p. i. Pröscholdt (23) beobachtete nach Verimpfung von Milch, die Abortus-Bangbazillen enthielt, das Eintreten der Agglutination frühestens 18 Tage, spätestens 81 Tage nach der Impfung. Als positiven Titer ermittelte er 1 : 40. Er (24) fand fernerhin in 86 % von auf Abortusbazillen untersuchten Milchproben eine Uebereinstimmung seiner Untersuchungsergebnisse, die sich auf den Nachweis der Milchagglutinine und den Meerschweinchenversuch unter Beiziehung der Agglutination gründeten. Rohonyi (25) konnte im Serum von mit Organmaterial intramuskulär infizierten Meerschweinchen 2 bis 3 Wochen p. i. die Agglutinine nachweisen. Nach Hedström (12) ist der Zeitpunkt des Auftretens von Agglutininen im Blute der geimpften Meerschweinchen abhängig vom Bazillenreichtum des Infektionsmaterials. Oßberger (21) prüfte das Blut von Meerschweinchen, denen Kulturmaterial intraperitoneal bzw. peroral einverleibt worden war. Die Höchsttiter betrugen 1:2000 und 1:4000. Bei nicht vorbehandelten Tieren wurde stets ein Titer kleiner als 10 festgestellt. In Versuchen von Drescher und Hopfengärtner (2) an infizierten Meerschweinchen war die serologische Feststellung an den Impftieren der bakteriologischen überlegen. Nach Fischer (8) ist für das verschiedenzeitige Auftreten der Agglutinine der Keimgehalt des Infektionsmaterials ausschlaggebend. Die Agglutinine konnte er frühestens am 5. Tage p. i. im Blute der Meerschweinchen feststellen. Stolz, Stolzova-Sutorisova (30) konnten nach Infektion durch die nicht traumatisierte Haut spätestens in der 4. Woche p. i. Agglutinine nachweisen. Gwatkin (10) erhielt mit Kulturen, auch nach vorheriger Abtötung durch Formalin, Carbol und Chloroform sowie mit Kulturextrakten nach subkutaner und intraperitonealer Impfung kräftige Agglutininbildung bei den Meerschweinchen. Nach Sundberg (31) sollen hochvirulente

Bakterienstämme die höchsten Agglutinationswerte liefern. Meyn und Weiske (20) konnten nach Verimpfung infizierter Milchproben Agglutinine erst 4—5 Wochen p. i. nachweisen. Frendzel und Szymanowski (9) wiesen unterschiedliche antigene Wirksamkeit von Abortus-Bangstämmen nach, je nachdem diese von Schweinen oder von Rindern stammten. Karsten (15) bezeichnet den Meerschweinchenversuch als die zur Zeit sicherste Methode zum Nachweis der Abortusbakterien in der Milch.

Nach dem Ausgeführten gebührt das Verdienst, zuerst auf die Agglutininbildung im Blut infizierter Meerschweinchen hingewiesen zu haben Zwick und Zeller. Die Frage wurde weiterhin von den verschiedensten Forschern teils in großen, systematisch angelegten Versuchen, teils nebenbei als Ergänzung der bakteriologischen Diagnostik am Meerschweinchen geprüft. Als Infektionsmaterial wurden Kulturen von Bangbazillen sowie Organmaterial verschiedenster Art, das Bangbazillen enthielt oder solche zu enthalten verdächtig war, beigezogen. Das Infektionsmaterial wurde zum Teil einer Vorbehandlung durch Verdünnen, Erhitzen oder Zusatz von Chemikalien unterworfen. Es wurden die verschiedensten Infektionsarten gewählt. Die Brauchbarkeit des Verfahrens wurde in experimentellen Untersuchungen soweit erhärtet, daß es heute breiteste Anwendung zum Nachweis von Bangbazillen findet. Die Unterschiede in der Versuchstechnik, in dem Infektionsmaterial und in dessen Vorbehandlung bedingen Unterschiede in den Angaben der einzelnen Forscher über das zeitliche Auftreten der Agglutinine im Meerschweinchenblut, über den Verlauf der Agglutinationskurven sowie über die Bestimmung der positiven Titerwerte. Uebereinstimmung besteht darüber, daß die antigene Wirkung des Infektionsmaterials wechselt je nach dessen Bakterienreichtum, Vorbehandlung und Art der Einverleibung.

EIGENE VERSUCHE.

Es wurde unterschiedliches Infektionsmaterial unvorbehandelt oder nach verschiedenartiger Vorbehandlung Meerschweinchen einverleibt, wobei die Infektionsart variierte. Die Prüfung des Meerschweinchenserums im Agglutinationsverfahren wurde in periodischen Untersuchungen lange Zeit durchgeführt.

VERSUCHS-ANORDNUNG.

MATERIAL.

Zur Infektion der Impftiere wurde Kulturmaterial (Abortuskultur) verwendet sowie Organmaterial, nämlich ein Labmageninhalt und Eihaut von infizierten Rinderfeten.

Kultur (K): Es fand der Kulturstamm B 7 Verwendung. Die Bazillen waren im Jahre 1925 aus einem abortierten Rinderfetus (Labmageninhalt) auf Traubenzucker-Glyzerin-Leber-Schrägagar unter Paraffinverschluß isoliert worden. Ihre Weiterzüchtung geschah auf dem gleichen Nährboden in Zwischenräumen von 8 Wochen. Die Kultur ging jeweils sehr üppig an. Sie war nach dem Dargelegten bereits seit 6 Jahren an aerobes Wachstum gewöhnt. Zu den Versuchen wurde eine 24stündige Schrägagarkultur (Nährboden wie oben) im Ausstrich auf dem Objektträger mit Gramfärbung auf Reinheit geprüft. Sie erwies sich dabei als Reinkultur. Hierauf wurden 2 Schrägagarröhrchen (Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar) mit der Platinöse beimpft. Nach 24 Stunden waren beide Röhrchen stark bewachsen. Der Kulturrasen wurde mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt (je Röhrchen 10 ccm), hierauf durch Glaswolle filtriert und mit einem Standardserum serologisch geprüft. Ergebnis: B. abortus Bang. Die Abschwemmung wurde im Verhältnis 1 : 10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Diese Flüssigkeit (Bakterienaufschwemmung von 1 Schräga-

garröhrchen Kultur in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung) stellte das Ausgangsmaterial für die mit Kultur angestellten Versuche dar.

Labmageninhalt (L): Es fand der Labmageninhalt eines 4½ Monate alten Rinderfetus, der aus einem mit Abortus-Bang verseuchten Bestande zur Untersuchung an der Veterinärpolizeilichen Anstalt in Einlauf kam, Verwendung. Der Inhalt des Labmagens bestand aus gelben, zähen Schleimmassen. Durch mikroskopische Untersuchung (Gramfärbung) wurden zahlreiche Bakterien vom Aussehen der Abortus-Bangbazillen neben wenigen Begleitbakterien ermittelt. Der Labmageninhalt wurde außerdem im Impfversuch kulturell auf Abortus-Bangbazillen untersucht. Zu dem Zweck wurden 2 Meerschweinchen, die am 17. 8. 31 mit dem unvorbehandelten bzw. auf $^1/_{10}$ verdünnten Labmageninhalt im bzw. ip infiziert worden waren, am 5. 12. 31 getötet. Geringe Mengen der vergrößerten Milzen wurden auf Drigalski- und Leberagarplatten (je 8 Platten) verbracht; die Platten wurden in Kohlensäure- bzw. Leuchtgasatmosphäre bei 37° C bebrütet. Die nach 3 Tagen in Reinkultur gewachsenen Kolonien erwiesen sich durch die mikroskopische Untersuchung und durch die Agglutination mit einem Standardserum als Abortus-Bangbazillen. Der Labmageninhalt wurde in einer sterilen Reibschale zerrieben und dabei langsam die gleiche Volummenge physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt; danach wurde die Aufschwemmung durch Glaswolle filtriert. Diese Flüssigkeit stellte das Ausgangsmaterial für die mit Labmageninhalt angestellten Versuche dar.

Eihaut (E): Es fand die Eihaut einer Kuh, die verworfen hatte, Verwendung. Die Eihaut kam zur Untersuchung an der Veterinärpolizeilichen Anstalt in Einlauf. Nach den Erscheinungen an der Eihaut (Nekrose) bestand der Verdacht, daß eine Abortus-Banginfektion vorlag. Durch mikroskopische Untersuchung (Gramfärbung) wurden zahl-

reiche Bakterien vom Aussehen der Abortus-Bangbazillen neben wenigen Begleitbakterien ermittelt. Weiter wurde die Eihaut im Impfversuch auch kulturell auf Abortus-Bazillen untersucht. Zu dem Zweck wurden 2 Meerschweinchen, die am 18. 12. 31 mit unvorbehandelter Eihaut ik bzw. ko geimpft worden waren, am 6. 5. 32 getötet. Die kulturelle Prüfung vollzog sich im übrigen wie beim Labmageninhalt geschildert. In der Milz beider Meerschweinchen wurden Bangbazillen festgestellt. Ein Stück Eihaut (Karunkel) wurde in einer sterilen Reibschale zerrieben und dabei langsam die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung zugesetzt, wie die Gewichtsmenge des Materials betrug. Die Aufschwemmung wurde durch Glaswolle filtriert; diese Flüssigkeit stellte das Ausgangsmaterial für die mit Eihaut angestellten Versuche dar.

VORBEHANDLUNG DES MATERIALS.

Das Untersuchungsmaterial kann mit Begleitbakterien verunreinigt sein. Das bedingt nicht selten ein vorzeitiges Eingehen der Impftiere. Es wäre ein Vorteil, wenn es gelingen würde, durch geeignete Vorbehandlung des Materials die Schädigung der Impftiere durch Begleitbakterien auszuschalten. Dabei soll aber das Infektionsmaterial seine antigene Wirkung möglichst nicht verlieren.

Das Ausgangsmaterial wurde auf verschiedene Art vorbehandelt, nämlich durch Verdünnen, durch Erhitzen auf verschiedene Wärmegrade, sowie mit Alkohol und Antiformin; außerdem wurde Verdünnung und Erhitzung kombiniert.

Verdünnung: 1 Teil des Ausgangsmaterials wurde mit 9 Teilen physiologischer Kochsalzlösung vermengt (Verdünnung 1 : 10).

Erhitzung: Zirka 30 ccm des Ausgangsmaterials wurden in Erlenmeyerkolben eine halbe Stunde in Wasserbädern von 50°, 70° und 100° unter öfterem Umschütteln gehalten.

Alkohol (Alk): 20 ccm des Ausgangsmaterials wurden mit 4 ccm Alkohol (96%ig) in steriler Reibschale vermengt. Das Gemisch wurde 1 Stunde im Brutschrank gehalten. In einzelnen Versuchen (Labmageninhalt) wurde das Material in dieser Zubereitung ohne weitere Behandlung zur Infektion verwendet. Für andere Versuche (Eihaut) wurde der Alkohol durch Auswaschen entfernt. Die festen Bestandteile wurden durch scharfes Zentrifugieren ausgeschleudert, bis die überstehende Flüssigkeit klar war; sie wurde abgeschüttet. Darnach wurde physiologische Kochsalzlösung in gleicher Menge zugesetzt, die der abgeschütteten Flüssigkeit entsprach. Der Bodensatz wurde wieder durch Schütteln in der Flüssigkeit gleichmäßig verteilt.

Antiformin (Ant): 20 ccm des Ausgangsmaterials wurden mit 0,1 ccm konzentriertem (40%igem) Antiformin in steriler Reibschale vermengt. Das Gemisch wurde 2 Stunden im Brutschrank gehalten. Im übrigen war die Weiterbehandlung des Materials die gleiche, wie oben bei Alkohol ausgeführt.

VERSUCHSTIERE.

Es wurden insgesamt 671 Meerschweinchen in den Versuch genommen. Mit Material wurden 360 Tiere infiziert. Für jeden Infektionsversuch wurden, um den Einfluß der individuellen Schwankungen festzustellen, 5 Meerschweinchen verwendet. 311 Meerschweinchen wurden nicht vorbehandelt; sie dienten der Feststellung, in welcher Menge (Titerhöhe) Normalagglutinine beim Meerschweinchen vorkommen. Das Gewicht der Meerschweinchen bewegte sich zwischen 280 und 920 gr; im allgemeinen betrug es 300—500 gr.

INFEKTIONSART.

Die Ansteckung der Versuchstiere geschah auf 7 verschiedene Arten: Intraperitoneal (ip), intramuskulär (im),

subkutan (sk), intrakutan (ik), intratestikulär (it), konjunktival (ko) und peroral (po).

Die intraperitoneale Infektion: Die Haare und die Haut an der Impfstelle wurden mit 96%igem Alkohol abgerieben. Die Haut wurde mit der linken Hand etwas verschoben und dann eine sterile Kanüle wenige Millimeter seitlich des Nabels durch die Bauchdecken des an den Hinterbeinen hochgehaltenen Meerschweinchens eingestoßen, bis ihre Spitze sicher in die freie Bauchhöhle vorgedrungen war. Dosis: 1 ccm.

Die intramuskuläre Infektion: Nach Abreiben der Haare und der Haut an der hinteren Fläche eines Hinterschenkels mit 96%igem Alkohol wurde eine sterile Kanüle in der Längsrichtung des Oberschenkels möglichst tief zwischen die Muskelmassen eingeführt. Dosis: 1 ccm.

Die subkutane Infektion: Die seitliche Brustwand hinter dem Schulterblatt wurde abgeschoren und mit 96%igem Alkohol abgerieben; darnach wurde eine sterile Kanüle in dorso-ventraler Richtung möglichst tief in das Unterhautzellgewebe hinter der Schulter eingeführt. Dosis: 1 ccm.

Die intrakutane Infektion: An der linken Brustseite wurde ein etwa talergroßes Hautstück mit einem Depilatorium (Barium sulfurat. 1000,0 + Amylum tritic. 500,0 + Zinc. ocyd. 500,0) enthaart, darauf das Operationsfeld gründlich gereinigt und mit 96%igem Alkohol abgerieben. Eine äußerst feine Kanüle wurde möglichst parallel der Körperoberfläche ungefähr 5 mm weit in die Haut flach eingestochen. Dosis: 0,1 ccm.

Die intratestikuläre Infektion: Das Material wurde in beide Hoden gleichmäßig verteilt. Die Hoden wurden mit dem Finger fixiert, die Hautstelle über den Hoden mit 96%igem Alkohol abgerieben und darnach eine

feine sterile Kanüle bis in das Zentrum des Hodens eingeführt. Dosis: 1 ccm (je Hoden 0,5 ccm).

Die konjunktivale Infektion: An einem Auge der Meerschweinchen wurden oberes und unteres Augenlid mit den Fingern einer Hand auseinandergehalten und hierauf mit einer Pipette Material auf die Kornea geträufelt. Dann wurden die Augenlider ungefähr ½ Minute sanft zugedrückt, um die Resorption der eingebrachten Flüssigkeit zu begünstigen. Dosis: 2 Tropfen.

Die perorale Infektion: Das Meerschweinchen wurde am Kopf in die Höhe gehalten, so daß die Nase senkrecht nach oben zeigte. Hierauf wurde das Material mit einer Pipette in die Maulhöhle tropfenweise eingeflößt, wobei darauf geachtet wurde, daß alles eingeführte Material abgeschluckt wurde. Dosis: 1 ccm.

Die zur Einverleibung des Materials benützten Spritzen und Pipetten wurden vor Gebrauch sterilisiert.

UNTERSUCHUNGSGANG.

Den infizierten Meerschweinchen wurde, soweit sie nicht während der Versuchsdauer zugrunde gingen, 15mal in einwöchigen Zeitabständen Blut entnommen. Gleich häufige Untersuchungen wurden an nichtvorbehandelten Meerschweinchen, die den infizierten Tieren als Kontrollen beigegeben und ebenso wie diese gehalten wurden, ausgeführt. Außerdem wurde eine größere Anzahl nichtinfizierter Meerschweinchen in einmaliger oder viermaliger Blutuntersuchung (mit 7tägigen Zeitabständen) auf das Vorhandensein von Normalagglutininen geprüft.

DIE BLUTENTNAHME

erfolgte am Meerschweinchenohr. Am Grunde einer Ohrmuschel wurden die Haare abgeschoren, hierauf der Ohrgrund mit Staufferfett eingestrichen. Die Blutgefäße am

äußeren Rand der Ohrmuschel wurden durch einen parallel zum Rand geführten Scherenschnitt geöffnet. Die so vorbereitete Ohrmuschel wurde in einen Erlenmeyerkolben hineingesteckt. Der Kolben war mit Saugansatz versehen und enthielt ein aufrecht stehendes Reagenzglas. Nach leichtem Aufdrücken des Ohrgrundes auf den breiten Rand des Erlenmeyerkolbens wurde bei einem Wasserunterdruck von 30 bis 40 cm das Blut abgesogen. Es wurden 3—4 ccm Blut in dem Reagenzröhrchen aufgefangen. Nach dem Gerinnen wurde der Blutkuchen mit einem Glasstab von der Glaswand losgelöst und darnach 30 Minuten bei 900 Umdrehungen je Minute zentrifugiert. Das so gewonnene Serum wurde abgeschüttet und im Agglutinationsversuch verwendet.

DIE AGGLUTINATIONSTECHNIK

Als Testflüssigkeit diente die an der Veterinärpolizeilichen Anstalt zu den laufenden Untersuchungen verwendete Gebrauchstest. Diese wird an der Anstalt folgendermaßen hergestellt: Aus eingegangenem Untersuchungsmaterial isolierte Bakterienstämme werden nach Angewöhnung an aerobes Wachstum auf Kolleflaschen, die Traubenzucker-Glyzerin-Leberagar-Nährboden enthalten, angezüchtet. Nach 24stündigem Wachstum werden die Bazillen mit Carbolkochsalzlösung (0,55 % Karbolsäure + 0,85 % Kochsalz) abgeschwemmt (je Kolleflasche ca. 10 ccm Abschwemmungsflüssigkeit) und durch Glaswolle filtriert. Die so gewonnene Stammtest wird mit Karbolkochsalzlösung verdünnt bis zu einer optischen Dichte, daß durch die in einem Reagenzglas befindliche Bakterienaufschwemmung eben noch Druckschrift gelesen werden kann. Die feinere Einstellung der Gebrauchstest — unter Zusatz von Stammtest oder Carbolkochsalzlösung - erfolgt durch Ansetzen einer Agglutinationsreihe mit einem Standardserum von bekanntem Agglutinationstiter.

Durch Zusatz von je 1 ccm Testflüssigkeit wurden folgende Serumverdünnungen hergestellt: 1 : 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 2000, 4000, 6000, 8000 und 10000. Die Verdünnungen 1 : 10 — 1 : 40 wurden vom unverdünnten Serum hergestellt durch Pipettieren der Mengen von 0,1, 0,05, 0,03 und 0,025 ccm; die Verdünnungen 1 : 50 bis 1 : 100 wurden aus einer Serumverdünnung 1 : 10 (0,1 Serum + 0,9 Carbolkochsalzlösung = Grundverdünnung I) hergestellt durch Pipettieren der Mengen von 0,2, 0,15 und 0,1 ccm; die Verdünnungen 1 : 200 — 1 : 4000 wurden aus einer Serumverdünnung 1 : 40 (0,1 ccm Serum + 3,9 ccm Carbolkochsalzlösung = Grundverdünnung II) hergestellt durch Pipettieren der Mengen von 0,2, 0,1, 0,07, 0,05, 0,04, 0,02 und 0,01 ccm; die Verdünnungen 1 : 6000, 1 : 8000 und 1 : 10000 wurden aus einer Serumverdünnung 1 : 400 (0,5 ccm der Grundverdünnung II + 4,5 ccm Carbolkochsalzlösung) hergestellt durch Pipettieren der Mengen von 0,07, 0,05 und 0,04 ccm. In den ersten Versuchen wurden außer diesen Verdünnungen noch die Verdünnungen 1 : 60, 1 : 300, 1 : 500 und 1 : 700 angesetzt.

Nach gründlichem Durchschütteln der Agglutinationsröhrchen wurden diese 7 Minuten lang bei 900 Umdrehungen je Minute zentrifugiert. Die Röhrchen blieben 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, worauf das Ergebnis abgelesen wurde. Die Ablesung erfolgte im Punktverfahren. Es wurde festgestellt, bei welcher Serumverdünnung keine nichtagglutinierten Bakterien mehr (kenntlich an einem Punkt auf der tiefsten Kuppe des Röhrchens) vorhanden waren. Die Serumverdünnung, bei der sämtliche Bakterien agglutiniert waren (Fehlen eines Punktes auf dem Boden des Agglutinationsröhrchens), wurde als Serumtiter bezeichnet.

DIE VERSUCHE MIT UNVORBEHANDELTEN MEERSCHWEINCHEN.

Die Versuche dienten vor allem der Feststellung, ob und bis zu welcher Titerhöhe im Blute nicht vorbehandelter Meerschweinchen Normalagglutinine gegenüber B. Abortus Bang vorhanden sind.

200 Meerschweinchen wurde 1mal Blut entnommen und im Agglutinationsverfahren geprüft. 100 Meerschweinchen wurde ferner viermal nacheinander in 7tägigen Zwischenräumen Blut entnommen. 5 Meerschweinchen sind vor der 2. Blutuntersuchung, 2 Meerschweinchen vor der 3. Blutuntersuchung interkurrent eingegangen. Es wurden also insgesamt 381 Einzeluntersuchungen an diesen Tieren durchgeführt. Von den 11 Meerschweinchen, die unvorbehandelt den infizierten Tieren beigesetzt wurden und deren Serum in 7tägigen Zeitabständen 15 Wochen lang geprüft wurde, sind 3 während der Versuchsdauer interkurrent eingegangen und zwar nach der 8., 10. und 14. Blutuntersuchung. Die Zahl der bei den Meerschweinchen durchgeführten Prüfungen betrug also insgesamt 152.

Ergebnis: Bei insgesamt 311 nichtvorbehandelten Meerschweinchen, die einmal oder wiederholt im Agglutinationsverfahren geprüft wurden, wurde in 733 Einzeluntersuchungen stets ein Titer kleiner als 1 : 10 festgestellt.

Darnach ist erwiesen, daß sich die Menge der Normalagglutinine im Meerschweinchenkörper unter dem Titer 1 : 10 bewegt. Diese Feststellung deckt sich mit früheren Beobachtungen der Veterinärpolizeilichen Anstalt an mehreren Hundert Meerschweinchen.

In meinen Infektionsversuchen wurden deshalb Titerwerte von 1 : 10 und höher als positive Titer angesprochen.

Von 111 wiederholt untersuchten Meerschweinchen sind

10 Meerschweinchen interkurrent zugrunde gegangen; nach der 1. Blutuntersuchung 5 Meerschweinchen, nach der 2. Blutuntersuchung 2 Meerschweinchen, nach der 8., 10. und 14. Blutuntersuchung je ein Meerschweinchen. Der Grund dürfte neben Außenumständen in der oft wiederholten Blutentnahme zu suchen sein. Diese Feststellung rät zur Vorsicht bei der Beurteilung der interkurrenten Todesfälle von infizierten Meerschweinchen.

DIE VERSUCHE MIT INFIZIERTEN MEERSCHWEINCHEN.

Ueber die Vorbehandlung der Meerschweinchen nach Material und Infektionsart gibt die nachfolgende Uebersicht Aufschluß. Es ist nicht möglich, die einzelnen in den Versuchsprotokollen niedergelegten Titer oder die daraus resultierenden Agglutinationskurven im Einzelnen wiederzugeben. Es sollen deshalb aus den Versuchsprotokollen nur einige allgemeine Punkte herausgehoben werden. Zur Beurteilung der einzelnen Versuche untereinander genügen die Angaben über das zeitliche Auftreten positiver Werte, über den Höchsttiter und über das allenfallsige Absinken der Kurven zu negativen Werten (Titer kleiner 10). Aus drucktechnischen Gründen wird der Titer „kleiner 10" kurz mit 0 bezeichnet. Das Einsetzen der Reaktion und die Höchsttiter werden jeweils in den Grenzwerten aufgeführt, die sich bei den 5 Meerschweinchen des einzelnen Versuches ergeben haben. Je nachdem diese übereinstimmen oder stark voneinander abweichen, kann auf das konstante oder inkonstante Verhalten der Versuchstiere geschlossen werden. Soweit die Agglutinationskurven zu negativen Werten absinken, ist der früheste Zeitpunkt angegeben, zu dem dies bei einem Versuchstier beobachtet wurde. Bei anderen Versuchstieren später einsetzende negative Werte blieben also unberücksichtigt. Auch blieb

außer Acht, wenn negative Werte weiterhin wieder von positiven Werten abgelöst wurden. Dies geschieht in der Erwägung, daß das erstmalige Auftreten negativer Werte anzeigt, daß von diesem Zeitpunkt ab die Agglutinationskurve nur noch unzuverlässige Ergebnisse — Zufallstreffer — liefert. Die Zusammenfassung unter den angegebenen Gesichtspunkten ist in der folgenden Uebersicht enthalten.

Übersicht über die einzelnen Infektionsversuche.

(Ausgeschieden nach Material und Infektionsart).

Inf.	Unvorbehandelt. Material	$^1/_{10}$ verd. Mat.	Erhitzung auf 50°	Erhitzung auf 70°	Erhitzung auf 100°	Alk. Vorbehdl	Ant. Vorbehdl.	Zahl der Versuche	Zahl der Meerschweinch.
ip	K L	K L	L	K K $^1/_{10}$ L	L	L E	L E	13	65
im	K L	K L	L	K K $^1/_{10}$ L	L	L E	L E	13	65
sk	K L	K L	L	K K $^1/_{10}$ L	L	L E	L E	13	65
ik	K E	—	E	K E	E	E	E	8	40
it	K E*)	—	E	K E	E	E	E	9	45
ko	K E	—	E	K E	E	E	E	8	40
po	K E	—	E	K E	E	E	E	8	40
Zahl der Versuche	15	6	7	17	7	10	10	72	—
Zahl der Meerschweinchen	75	30	35	85	35	50	50	—	360

*) Der Versuch wurde wiederholt.

Anmerkung: Erklärungen der Abkürzungen Seite 12 mit 15.

Übersicht über die Ergebnisse der Infektionsversuche nach dem zeitlic

Inf.-Art	Unvorbehandelt			1/10 verdünnt		50°		
	Kultur	Lab-magen	Eihaut	Kultur	Lab-magen	Lab-magen	Eihaut	Kultu
ip	1. W. 2000—4000 —	1.—2. W. 1000—4000 —	—	1. W. 300—8000 —	1.—2. W. 4000 —	1.—3. W. 600 0 ab 3. W.	—	1. W. 200—4 0 ab 5.
im	1. W. 1000—6000 —	2.—3. W. 1000—4000 —	—	1. W. 4000—6000 —	1.—2. W. 4000 —	1.—6. W. 30—2000 0 ab 3. W.	—	1. W. 100—2 0 ab 5.
sk	1. W. 4000—10000 —	2.—3. W. 1000—4000 —	—	1. W. 6000 —	1.—2. W. 800—4000 —	1.—2. W. 600—1000 0 ab 3. W.	—	1. W. 75—70 0 ab 4.
ik	1. W. 2000—4000 —	—	1.—2. W. 6000 —	—	—	—	1.—3. W. 800 —	1.—2. W 100—20 0 ab 7.
it	1. W. 2000 —	—	1.—3. W. 400—4000 —	—	—	—	1.—2. W. 400—1000 —	1. W. 2000 —
ko	1.—2. W. 600 0 ab 2. W.	—	1.—4. W. 400 0 ab 2. W.	—	—	—	1.—9. W. 200 0 ab 2. W.	1.— ∞ W 0—50 0 ab 3. W
po	1.—13. W. 40—400 0 ab 2. W.	—	2.—5. W. 1000 —	—	—	—	1.—11. W. 200—2000 0 ab 2. W.	1.—11. W 30—10 0 ab 2. W

en Auftreten positiver Titer, Höchsttiter und Einsetzen negativer Titer.

70°			100°		Alkohol		Antiformin	
$^1/_{10}$ Kultur	Lab-magen	Eihaut	Lab-magen	Eihaut	Lab-magen	Eihaut	Lab-magen	Eihaut
1. W.	1.—3.W.		1. W.		1.—5 W.	1.—5.W.	1.—8.W.	1. W.
30—200	20—1000	—	30	—	20—2000	2000	10—30	600
0 ab 3.W.	0 ab 3.W.		0 ab 2.W.		0 ab 2.W.	—	0 ab 2.W.	—
1. W.	1.—11.W.		1. W.		2.—6.W.	1.—2.W.	1.—7.W.	1.—2.W.
30—300	10—200	—	20—30	—	300—2000	400	20—300	200—400
0 ab 4.W.	0 ab 3.W.		0 ab 3.W.		0 ab 3.W.	—	0 ab 2.W.	—
1. W.	1.—4.W.		1. W.		3.—5.W.	1. W.	2.—6.W.	1.—2.W.
40—100	20—40	—	20—30	—	1000—2000	800	20	800—4000
0 ab 3.W.	0 ab 2 W.		0 ab 2.W.		0 ab 4.W.	—	0 ab 3.W.	—
		2.—5.W.		1.—4.W.		2 —4.W.		1.—3.W.
—	—	20	—	20—100	—	1000	—	600—2000
		0 ab 3.W.		0 ab 3.W.		—		—
		1. W.		1. W.		1.—3. W.		1.—3. W.
—	—	50 —400	—	40—75	—	800—1000	—	600—800
		0 ab 6. W.		0 ab 3. W.		—		—
		5.— ∞ W.				1.— ∞ W.		1.—3. W.
—	—	0—10	—	0	—	0—10	—	100
		0 ab 6. W.				0 ab 2.W.		0 ab 2. W.
				7.— ∞ W.		9. W.		1.—9. W.
—	—	0	—	0—10	—	600	—	20—1000
				0 ab 8. W.		—		0 ab 2. W.

Nur in 2 Versuchen wurden während der Beobachtungszeit von 15 Wochen niemals positive Werte ermittelt. Es betraf dies Eihaut, auf 70° bzw. 100° erhitzt, nach peroraler bzw. konjunktivaler Infektion.

Die Anfangstiter bewegten sich zwischen 10 und 400; sie setzten zwischen 1. und 13. Woche ein. Die Höchsttiter bewegten sich zwischen 10 und 10000; sie wurden zwischen 1. und 15. Woche erreicht. Ein Absinken der Agglutinationskurven zu negativen Titern wurde zwischen 2. bis 8. Woche beobachtet. Die Endtiter (15. Woche) bewegten sich zwischen 0 bzw. 10 und 2000.

Der Verlauf der Agglutinationskurven ist bedingt durch das Ausgangsmaterial, dessen Vorbehandlung und durch die Infektionsart. Es ergibt sich folgendes:

Das Ausgangsmaterial: Hier sollen die Versuche mit der konjunktivalen und peroralen Infektion wegen ihrer Besonderheiten vorerst unberücksichtigt bleiben. Bei einem Vergleich des unvorbehandelten Ausgangsmaterials ist die Kultur dem Labmageninhalt und der Eihaut in ihren antigenen Eigenschaften überlegen. Es gibt sich dies weniger in den Höchsttitern als in dem verzögerten zeitlichen Einsetzen der Reaktion kund. Die Infektion mit unvorbehandeltem Material lieferte spätestens bis zur 3. Woche Reaktionen. Ein Absinken auf negative Werte trat nicht ein.

Die Vorbehandlung des Materials: Auch hier soll die konjunktivale und perorale Infektion vorerst unberücksichtigt bleiben.

Das Verdünnen von Kultur und Labmageninhalt bedingte keine Beeinträchtigung der antigenen Wirksamkeit des Infektionsmaterials. Es wurden im Gegenteil, gemessen an dem raschen Einsetzen der Infektion, mit dem verdünnten Labmageninhalt bessere Ergebnisse erzielt als mit dem unverdünnten. Ein Absinken auf negative Werte wurde nicht beobachtet.

Das Erhitzen des Ausgangsmaterials bedingte zweifellos eine Beeinträchtigung der antigenen Wirkung. Dies drückt sich aus in geringeren Agglutinationswerten (fallend mit dem Grad der Erhitzung) und in einem raschen Absinken der Agglutinationskurven auf negative Werte (bereits ab 2. und 3. Woche). Das Einsetzen der Reaktion kann bis zur 6. Woche (50°) bzw. bis zur 11. Woche (70°) verzögert sein. Auffallenderweise setzt mit dem auf 100° erhitzten Material die Reaktion in der Regel in der 1. Woche und nur einmal zwischen 1. bis 4. Woche (intrakutane Infektion) ein. In dieser Hinsicht sind die Ergebnisse hier vielfach sogar bessere als mit dem unvorbehandelten Material. Allenfalls besitzen wir im Erhitzen des Materials auf 100° eine Möglichkeit, zu Frühreaktionen zu gelangen. Das Erhitzen eines vorher verdünnten Materials schädigt mehr als das Erhitzen von unverdünntem Material; bei dem auf 70° erhitzten und gleichzeitig verdünnten Kulturmaterial senkte sich die Agglutinationskurve 1—2 Wochen früher auf negative Werte als bei dem gleich hoch erhitzten unverdünnten Material. Das erscheint um so bemerkenswerter, weil das Verdünnen allein zu keiner Beeinträchtigung geführt hat.

Die Vorbehandlung des Materials mit Alkohol beeinträchtigt die Titerhöhe nur unwesentlich. In dieser Beziehung steht die Wirkung des Alkohols etwa der Erhitzung auf 50° gleich. Dagegen wird durch die Alkoholvorbehandlung der Beginn der Reaktion bis zur 5. und 6. Woche hinausgezögert (Spätreaktionen). In der Schnelligkeit der Reaktion und dem konstanten Auftreten positiver Werte zeigt sich die Eihaut dem Labmageninhalt überlegen; letztere lieferte indessen höhere Titer.

Die Antiforminvorbehandlung des Labmageninhalts läßt eine starke Abschwächung des Infektionsmaterials, gemessen an der Titerhöhe, der Schnelligkeit der Reaktion und dem Durchhalten der positiven Titer erkennen. Demgegen-

über sind die Ergebnisse mit der Eihaut nach allen 3 Richtungen ausgezeichnete. Ob das unterschiedliche Verhalten von Labmageninhalt und Eihaut durch die Verschiedenartigkeit des Ausgangsmaterials bedingt ist oder durch die unterschiedliche Technik in der Vorbehandlung — Eihautmaterial wurde vor dem Verimpfen durch Waschen und Zentrifugieren von den Chemikalien gereinigt, der Labmageninhalt dagegen nicht — bleibt vorerst dahingestellt.

Die Infektionsarten: Die Ergebnisse mit der konjunktivalen und peroralen Infektion sollen vorerst ausscheiden; sie werden gesondert besprochen werden.

Es kann vorausgeschickt werden, daß die Agglutinationsergebnisse fast ausschließlich durch das Infektionsmaterial und nur ganz unwesentlich durch die Infektionsart beeinflußt werden. Um so vorsichtiger muß bei der vergleichenden Beurteilung der einzelnen Infektionsarten vorgegangen werden. Bindende Schlüsse in der Bewertung sind nur dort möglich, wo die Infektionsarten an gleichartigem Infektionsmaterial ausgeprüft wurden. Darnach ergeben sich nur geringe Unterschiede zwischen den 5 zur Besprechung stehenden Infektionsarten (ip, im, sk, ik, it). Eine Gesetzmäßigkeit, wonach eine Infektionsart anderen überlegen wäre, läßt sich nicht herausstellen. Nur bei der intramuskulären Infektion scheint eine Verzögerung in der Reaktionsgeschwindigkeit einzutreten, wie ein Vergleich der Versuche mit auf 50° und 70° erhitztem Labmageninhalt erweist. Besondere Erwähnung verdienen wohl die ausgezeichneten Ergebnisse mit der intrakutanen und intratestikulären Infektion, die den anderen gebräuchlicheren Infektionsarten gegenüber nicht unterlegen sind. Dabei scheint die intratestikuläre Infektion der intrakutanen Infektion etwas überlegen zu sein, insoferne bei letzterer im allgemeinen die Reaktion etwas langsamer einsetzt. Dabei darf nicht übersehen werden, daß zur intrakutanen Infektion nur der 10. Teil von Infektionsmaterial verwendet wurde.

Die konjunktivale und perorale Infektion wurden nur aus wissenschaftlichem Interesse angewandt. Es konnte von vorneherein angenommen werden, daß sie sich für praktische Zwecke mit den übrigen Infektionsarten nicht messen können. Das ist auch der Fall. Immerhin ist es bemerkenswert, daß auch mit diesen Infektionsarten Reaktionen ausgelöst werden. Je nach dem Material wurden Agglutinationstiter bis 600 (ko) bzw. bis 2000 (po) ermittelt. Im allgemeinen tritt bei diesen Infektionsarten die Reaktion später ein als mit anderen Infektionsarten (Spätreaktionen). Selbst mit abgetötetem Infektionsmaterial konnte bei Anwendung beider Infektionsarten noch Agglutininbildung, wenn auch in bescheidenen Grenzen (Höchsttiter 10) und inkonstant, angeregt werden (E 70% ko und E 100% po). In 2 weiteren Versuchen mit gleichem Material versagte allerdings jede der beiden Infektionsarten einmal vollständig. Die perorale Infektion ist der konjunktivalen Infektion gegenüber etwas überlegen; die Menge des einverleibten Materials war bei letzterer aber auch geringer als bei ersterer.

Von den Versuchstieren (360) sind während der Versuchsdauer (15 Wochen) 193 = 54 % zugrunde gegangen und zwar von den mit Kultur geimpften 46%, von den mit Labmageninhalt geimpften 47%, von den mit Eihaut geimpften 63%.

Die meisten Verluste (31% der Todesfälle) trafen auf die 3. und 4. Woche (je 30 Todesfälle). Eine Gesetzmäßigkeit bezüglich der Ursache dieser Todesfälle nach Material oder Infektionsart läßt sich nicht herausstellen. Die Mehrzahl der Versuchstiere ist zufälligen Infektionen (Pseudotuberkulose) erlegen. Bei den während der kalten Jahreszeit angestellten Versuchen (Dezember, Januar) sind mehr Todesfälle — 62% — eingetreten als in der wärmeren Jahreszeit (August) — 42% —. Die interkurrenten Todesfälle wurden zweifellos

begünstigt durch die Schwächung der Versuchstiere infolge der ungewöhnlich häufigen Blutentnahmen.

Für die praktische Durchführung der Agglutination im Meerschweinchenversuch ergeben sich aus meinen Versuchen einige allgemeine Gesichtspunkte. Es muß das Bestreben sein, zu einer raschen Diagnose zu gelangen. Damit wird die Seuchenbekämpfung gefördert, die Diagnosestellung verbilligt und vereinfacht und die Gefahr eines interkurrenten Eingehens der Versuchstiere während der Beobachtungszeit vermindert. Unter diesen Gesichtspunkten kann eine Vorbehandlung des Materials mit Antiformin und Alkohol sowie die konjunktivale und perorale Infektion nicht empfohlen werden, weil damit Spätreaktionen ausgelöst werden. Soweit es möglich ist, sollte die Infektion mit unvorbehandeltem Material durchgeführt werden. Ist wegen Anwesenheit von Begleitbakterien eine Vorbehandlung des Materials angezeigt, so empfiehlt sich die Erhitzung auf 100°.

ZUSAMMENFASSUNG.

Bei nichtvorbehandelten Meerschweinchen liegt der Agglutinationstiter unter 1 : 10. Mit Kultur, Labmageninhalt und Eihaut infizierter Feten gelang es, die Agglutininbildung im Meerschweinchenkörper anzuregen, auch wenn das Infektionsmaterial verdünnt, auf 50°, 70° und 100° erhitzt, mit Alkohol und Antiformin vorbehandelt, einverleibt wurde. Die Agglutininbildung erfolgte nach intraperitonealer, intramuskulärer, subkutaner, intrakutaner, intratestikulärer, konjunktivaler und peroraler Infektion. Die Agglutinationskurven zeigten je nach dem Ausgangsmaterial und der Infek-

tionsart weitgehendste Unterschiede und Mannigfaltigkeit. Unter praktischen Gesichtspunkten kann die Vorbehandlung des Materials mit Alkohol und Antiformin sowie die konjunktivale und perorale Infektion nicht empfohlen werden.

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Direktor Dr. Drescher für die Ueberlassung des Themas, für die Bereitstellung des Materials sowie für die gütige Anleitung und Beratung während der Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Auch Herrn Veterinärmedizinalrat Dr. Hopfengärtner bin ich für die freundliche Anleitung und Beihilfe bei der Durchführung meiner Versuche zu großem Dank verpflichtet.

LITERATUR-ANGABEN.

1. Ascoli, A. Ueber die Reinzüchtung des Bangschen Bazillus. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 75. 1913. S. 172.
2. Drescher und Hopfengärtner. Die Haltbarkeit der Bangschen Abortusbazillen in Milch und Milchprodukten. M.T.W. 1930. S. 465.
3. Eber, A. Das seuchenhafte Verkalben und seine Bekämpfung. D.T.W. 1923. S. 281.
4. Ehrlich. Ein Fall von Bang scher Abortusinfektion beim Bullen. D.T.W. 1926. S. 469.
5. Ehrlich. Erfahrungen mit verschiedenen diagnostischen Methoden zur Feststellung des seuchenhaften Verkalbens. D.T.W. 1928. S. 56.
6. Eickmann, H. und Söntgen, K. Eine Methode zur beschleunigten Feststellung des Abortus infectiosus beim Rinde in mikroskopisch- und kulturell zweifelhaften Fällen. D.T.W. 1924. S. 386.
7. Ernst, W. Zur Bekämpfung des seuchenhaften Verwerfens der Rinder. D.T.W. 1924. S. 400.
8. Fischer, K. Ein Beitrag zur Diagnose des seuchenhaften Verwerfens der Rinder (Abortus Bang) mit Hilfe des Meerschweinchenversuchs. In.Diss. Wien 1931.
9. Frendzel und Szymanowski. Zur Differenzierung der S- und R-Stämme des B. Bang. Zentrbl. f. Bakt. Orig. Bd. 119. 1931. S. 455.
10. Gwatkin, R. (Toronto). The effect of killed cultures and filtrates of Brucella abortus in the prevention of infection in guinea — pigs. (J. inf. Dis. 48, 381—403, 1931). Ref.Zentrbl. f. Bakt. Abtlg. I. Ref.Bd. 104. 1932. S. 165.
11. Hagan, W. A. Studies of the disease of guinea pigs due to Bacillus abortus (J. of. exp. M. 1922 p. 697). Ref.Zentrbl. f. Bakt. Abtlg. I. Ref.Bd. 75. 1923/24. S. 270.
12. Hedström, H. Untersuchungen über die Zeit, welche nach Impfung der Meerschweinchen verfließen muß, bevor deren Serum mit Abortantigen untersucht werden kann, um die An- oder Abwesenheit von Abortusbazillen im Impfmaterial festzustellen. Skand. Vet. Tijdskr. 1930. S. 103. Ref. D.T.W. 1931. S. 46.

13. Van der Hoeden. Untersuchungen über das Vorkommen des Bacillus Abortus Bang in Milch und Butter. Tijdschr. v. Diergenesk. 56. Deel. Afl. 6. Ref.Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 1929. Bd. 39. S. 265.

14. Hopfengärtner, M. Der kombinierte Tierversuch zum Nachweis des Bazillus — Abortus — Bang in Feten und Eihäuten. In.Diss München 1923.

15. Karsten. Ueber das Vorkommen und den Nachweis von Abortusbakterien in der Milch der Kühe. D.T.W. 1932. S. 689.

16. Klimmer, M. Spezifische Diagnostik, Prophylaxis und Therapie des durch den Bangschen Bazillus verursachten Abortus. Ergebnisse der Bakteriologie 1. 1914. S. 143.

17. Klimmer, M. Abortus Bang und Milchhygiene. B.T.W. 1932. S. 151.

18. Koegel, A. Beiträge zur Abortusforschung. M.T.W. 1923. S. 610.

19. Makkawejsky, W. N. Die Bang-Infektion des Menschen. D.T.W. 1929. S. 785.

20. Meyn, A. und Weiske, G. Untersuchungen über den Abortusbakteriengehalt der Vorzugsmilch einer Großstadt. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 1931. Bd. 41. S. 277.

21. Ossberger, J. Das Vorkommen des Bacillus Abortus Bang im Blute. In.Diss. München 1930.

22. Poppe. Ueber die Banginfektion. M.M.W. 1929. S. 703.

23. Pröscholdt, O. Zum Nachweis von Abortus-Bang-Bakterien in der Milch. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 1929. S. 277.

24. Pröscholdt, O. Die Feststellung der Ausscheidung von Abortus-Bang-Bakterien mit der Milch. D.T.W. 1932. S. 673.

25. Rohonyi, N. Ueber den infektiösen Abortus. D.T.W. 1929. S. 249.

26. Salus, G. Die Brauchbarkeit des Meerschweinchenversuchs nach Eickmann und Söntgen bei der Diagnose des seuchenhaften Verkalbens. In.Diss. Dresden 1925.

27. Schermer und Ehrlich. Die Immunisierung gegen das seuchenhafte Verkalben. B.T.W. 1923. S. 37.

28. Schwarz, M. Zum Nachweis von Abortus-Bang-Bakterien in der Milch. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 1929. Bd. 39. S. 175.

29. Sensenich, R. and Giordano, A. Brucella abortus infection in man. (J. of. Americ. med. Ass. 1928, 90, p. 1782). Ref.Zentrbl. f. Bakt. Abtlg. I. Ref.Bd. 92. 1928. S. 253.

30. Stolz, J. und Stolzova-Sutorisova, M. Künstliche Kutaninfektion des Meerschweinchens mit dem Bangschen Bazillus (cas. lek.

ces. 1931, 849). Ref.Zentrbl. f. Bakt. Abtlg. I. Ref.Bd. 104. 1932. S. 163.

31. Sundberg, R. Messungen der Virulenz vier verschiedener Bazillus — Abortus — Stämme mittels Impfung von Meerschweinchen und wiederholter Bestimmungen des Agglutiningehalts der geimpften Meerschweinchen. Skand. Vet. tidsk. 21, 97—101, 1931. Ref.Jahresbericht d. Veterinärmedizin 1932. 2. Hälfte. S. 1118.

32. Witte, J. Vergleichende Untersuchungen über die Verwertbarkeit der Komplementbindung mit aktivem und inaktivem Serum sowie mit der Agglutination bei der Diagnose des seuchenhaften Verkalbens. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere 1925. Bd. 27. S. 207.

33. Wißigmann, J. Beiträge zur Züchtung des Bazillus Abortus Bang auf festen Nährboden. In.Diss. München 1932.

34. Zeller, H. Weitere Untersuchungen über das seuchenhafte Verwerfen des Rindes. Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt 1924. Bd. 54. S. 1.

35. Ziętschmann. Ref.Jahresbericht über die Leistungen auf dem Gebiete der Veterinär-Medizin 1924. S. 74/76. (Arbeiten aus dem Ontario Veterinary College 1923.)

36. Zwick und Zeller. Ueber den infektiösen Abortus des Rindes. Arbeiten a. d. Reichsgesundheitsamt 1912. Bd. 43. S. 1.

LEBENSLAUF.

Geboren am 13. November 1906 zu Neu-Ulm besuchte ich von 1913 bis 1917 die dortige Volksschule und trat dann in die Realschule Neu-Ulm über. Durch Versetzung meines Vaters kam ich an die Gisela- und später an die Luitpold-Oberrealschule in München, an der ich im April 1926 das Reifezeugnis erhielt.

Vom Sommersemester 1926 ab widmete ich mich in München dem Studium der Veterinärmedizin und erlangte im Juli 1932 die Approbation als Tierarzt.

Von Anfang August 1931 bis Anfang Dezember 1932 war ich mit der Anfertigung vorliegender Arbeit beschäftigt.